



TITLE:

<学術講演会抄録>培養マウスマクロファージにおける鼠ライ菌感染による H³ ウリジン取込み阻害

AUTHOR(S):

尾里, 啓子

CITATION:

尾里, 啓子. <学術講演会抄録>培養マウスマクロファージにおける鼠ライ菌感染による H³ ウリジン取込み阻害. 京都大学結核胸部疾患研究所紀要 1972, 5(1): 21-22

ISSUE DATE:

1972-01-31

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/52331>

RIGHT:

培養マウスマクロファージにおける鼠ライ菌 感染による H^3 ウリジン取込み阻害

京都大学結核胸部疾患研究所細菌血清学部

尾 里 啓 子

始めに

近年、試験管内における哺乳動物細胞の培養技術が進歩した。細菌感染の研究分野においても、宿主の基本的な単位であるところの細胞を培養することによって、侵入して来た菌との関係を直接的に再現することができる¹⁾。

さて、鼠ライ菌は、人ライ菌と同じく、抗酸菌に属し、*in vitro* の培養が非常に困難であることの他に、異物を貪食するマクロファージの中でのみ増殖する、いわゆる絶対寄生菌としての特徴がある。感染が成立すると、貪食された鼠ライ菌は、マクロファージの中で、殺菌されることなく、増殖してゆくという逆説的な関係が進行する。

菌と細胞のかかる関係を解析するために、マウスマクロファージを試験管内において培養し、鼠ライ菌を感染させる系を確立すること、および感染に際しての、宿主であるマクロファージの核酸代謝について調べることがこの研究の目的とされた。

材料と方法

鼠ライ菌は、H系マウス皮下にて継代されているハワイ株を使った。病巣を切りとり、4% NaOH 処理後、0.2%トリプシンで1時間処理する。この操作によって、混入した宿主組織の破片を除去することができる。調整された菌は、細胞の培養に使う培地から抗生物質を除去したものによって、適当に希釈され感染に用いられた。

マクロファージの採集および培養については、まず成熟マウスに12%カゼインを腹腔内に

注射し、3日後に細胞を取出す。全細胞のうち約63%がマクロファージであった。

培養液は、合成培地ハム F12 に、ペニシリン、ストレプトマイシンを添加し、さらに、仔牛血清 30%を加えたものを使った。37°C 5% CO_2 の条件でシャーレまたはレイトンチューブにて静置培養すると、マクロファージは、ガラス面に付着するが、リンパ球等は浮遊したままであるので、この液を捨て、新たな培地と交換して、マクロファージを選択的に培養した。

細胞の RNA 合成は、 H^3 ウリジンの取込みを、オートラジオグラフ法によって調べた。RNA 前駆物質、 H^3 ウリジンは、5 μ c/ml の濃度で1時間ラベルした。細胞の固定後 0.5% PCA を 4°C で20分処理し、オートラジオグラフ用の乳剤で細胞をコートし、約2週間露出後、出現した銀粒子数をかぞえることによって、細胞の RNA 合成を定量化した。

結 果

ガラス面に付着した細胞は、様々な形態を示すが、鼠ライ菌を感染させると、すべての細胞がこれを貪食し、その食菌能には差がないことが示された。図1は細胞あたり菌を5個感染させた場合の貪食菌数を示している。

貪食された菌は、初期においては、細胞質の中に一様に散在しているが、3~4日後には、ファゴゾームに局在するようになり、そのまま細胞は約2週間試験管内で生存している。

さて、未感染のマクロファージは、主に核の部分に H^3 ウリジンの取込みが認められた。しかし、DNA の前駆物質である H^3 チミジンの

表1 CHANGE of H^3 -UdR UPTAKE by MACROPHAGE INFECTED with *M. lepramurium*

	control	0 hr	2 hrs	3 hrs	2 days
number of grain (A)	17.7±6.6	19.6±8.5			
number of grain (B)	22.2±5.9		2.8±1.5	1.5±1.5	10.4±3.3

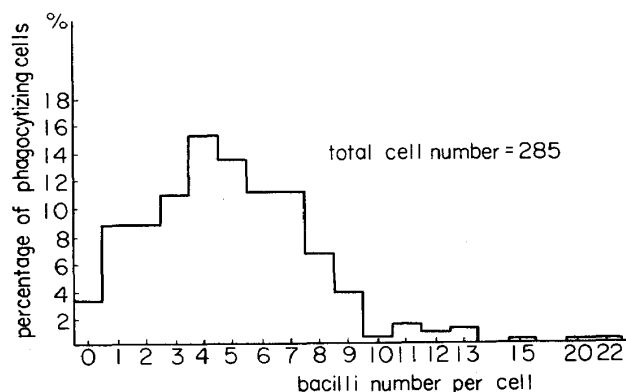


図1 The NUMBER of PHAGOCYTIZED BACILLI per CELL

取込みは見られなかったので、上記の条件で培養されたマクロファージは、Keast & Birnie²⁾等の報告にもあるように、DNA 合成がほとんどなく、ウリジンは、すべて RNA 合成に使われたと判断できる。

次に、細胞と菌を接触させ、感染を起こした細胞について、その直後、および2時間、3時間後、48時間後に各々ラベルし、細胞あたりの各々の銀粒子数を数えて、未感染対照のものと比較した。

表1に示すごとく、結果は、感染2時間後および、3時間後には急速な取込みの減少が見られた。対照のものの約10%の値まで低下している。感染直後のものは、未感染対照のものと、有為の差は見られなかった。さらに2日後には、RNA 合成の若干の回復が見られた。この実験では1細胞あたり4.5個の菌を感染させた。

このような顕著な RNA 合成の低下は、感染させる菌数に依存し、菌数が多くなるほど取込みの低下が激しくなることが、さらに確かめられた。

考 察

マクロファージの異物貪食後における、各種の代謝パターンの変動については、多数報告さ

れているが³⁾、核酸代謝においては、ほとんど知られていなく、わずかに、ヒトモノサイト及び好中球におけるラテックス貪食後の報告がなされているのにとどまる^{4,5)}。

菌感染の系では、菌と細胞の RNA 合成を分離してはかることが困難であることがひとつの大きな障害であったが、この報告の示すように、オートラジオグラフ法はその点に有効である。この手法を使って、さらに、さきに見た RNA 合成の阻害が、鼠ライ菌に特異的現象なのか、他の菌でも起り得るのかということ、及び、この阻害の機構についてさらに詳細な研究がなされるべきであると思われる。

要 約

試験管内で培養されたマウスマクロファージは、鼠ライ菌を感染させると、2時間後にその RNA 合成が、顕著に低下する。しかし感染直後のものは対照と変わらない。2時間後の取込み低下は菌数に依存している。

References.

- 1) Hsu, H. S. Amer. Rev. Rerp. Dis, **100** 677 '69.
- 2) Heast, D. and Birnie, G. D. Exp. Cell Res **58** 253 '69.
- 3) Pearsall, N. N. and Weiser, R. S. The Macrophage Lea and Febiger chap7 p57 '70.
- 4) Cline, M. T. and Lehrer, R. I. Blood **32** 423 '68.
- 5) Cline, M. T. Blood **28**, 188 '66.